

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235592**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **411062**

(22) Data zgłoszenia: **25.01.2015**

(51) Int.Cl.
A61K 33/26 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61P 3/02 (2006.01)

(54) **Płynna kompozycja zawierająca źródło żelaza w postaci niejonowej oraz zastosowanie**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
01.08.2016 BUP 16/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
07.09.2020 WUP 13/20

(73) Uprawniony z patentu:

WRZOSEK ARTUR, Tomice, PL
KŁYS PIOTR, Stara Iwiczna, PL
CIĘCIARA MARIUSZ, Tomice, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

ARTUR WRZOSEK, Tomice, PL
PIOTR KŁYS, Stara Iwiczna, PL
MARIUSZ CIĘCIARA, Tomice, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Grażyna Padée

PL 235592 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest płynna kompozycja zawierająca źródło żelaza w postaci niejonowej o ściśle zdefiniowanej wielkości cząstek oraz jej zastosowanie w celu uzupełniania niedoborów żelaza. Kompozycja może być stosowana jako preparat farmaceutyczny lub suplement diety.

Żelazo jest jednym z najważniejszych pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Mikroelement ten jest głównym składnikiem transportującej tlen hemoglobiny. Reguluje proces prawidłowej produkcji czerwonych krwinek i hemoglobiny, warunkując prawidłowy transport tlenu w organizmie. Żelazo odgrywa również istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu odpornościowego, utrzymaniu prawidłowych funkcji poznawczych oraz w procesie podziału komórek. Dzielne zapotrzebowanie na żelazo uzależnione jest od wieku, płci i stanu zdrowia. Inne zapotrzebowanie występuje u osób dorosłych, inne u małych dzieci, kobiet w ciąży, matek karmiących, a także osób po zabiegach chirurgicznych wiążących się z dużą utratą krwi. Przyjmuje się, że średnio dziennie zapotrzebowanie na ten pierwiastek wynosi 10–20 mg, według Dyrektywy Komisji EU 2008/100/WE z dnia 28 października 2008 r. RDA dla żelaza wynosi 14 mg. Zaburzenia gospodarki żelazem mogą prowadzić do wielu niekorzystnych zmian w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu, z których najpoważniejsza to niedokrwistość. Jest to najczęściej występujący i najbardziej rozpowszechniony na świecie rodzaj anemii, objawiający się zbyt niskim poziomem hemoglobiny i małą ilością czerwonych krwinek.

Przyswajalność żelaza z produktów spożywczych jest stosunkowo niewielka i wynosi od kilku do maksymalnie 20%. Wiele osób sięga więc po preparaty posiadające w swym składzie żelazo, jednak, jak pokazują badania naukowe, jego przyswajalność w formie rozpuszczalnych soli również nie jest zbyt wysoka i nie przekracza zazwyczaj 25%.

Ze względu na trudne parametry dostępności biologicznej żelaza w lecznictwie stosuje się ten pierwiastek w postaci zróżnicowanych form chemicznych, dostosowanych do konkretnych postaci farmaceutycznych i dróg podania. Do najpopularniejszych i najczęściej stosowanych należą rozpuszczalne sole żelaza. Są to zarówno związki nieorganiczne, jak i organiczne, takie jak: siarczan (VI) żelaza (II), chlorek żelaza (III), pirofosforan żelaza (III), fumaran żelaza (II) czy glukonian żelaza (II). Znane są również preparaty zawierające żelazo elementarne. Postać oraz procentowa zawartość żelaza w rozpuszczalnej soli determinują wchłanianie, jak i jego późniejszą aktywność biologiczną. Z uwagi na dużą masę molową i niską zawartość procentową żelaza (10–36%) w jego solach oraz na ich utrudnioną biodostępność, w celu osiągnięcia pożądanego efektu terapeutycznego konieczne jest stosowanie dużych dawek soli żelaza, co powoduje nasilenie efektów ubocznych ze strony układu pokarmowego. Stosowanie dużych dawek rozpuszczalnych soli zwiększa również znacząco ryzyko zatrucia lub przedawkowania preparatów zawierających żelazo, wymagających interwencji lekarskiej. Ogromne znaczenie ma również wartościowość żelaza wchodzącego w skład rozpuszczalnej soli – jony żelaza Fe^{3+} wykazują się dużo gorszą biodostępnością niż jony Fe^{2+} (mechanizmem transportu żelaza jest związany z DMT (ang. Divalent Metal Transporter)).

Część z tych problemów rozwiązuje stosowanie żelaza elementarnego. Żelazo elementarne ulega transformacji do postaci zjonizowanej dopiero w przewodzie pokarmowym, pod wpływem soku żołądkowego i kwasu solnego w nim zawartego. Żelazo elementarne charakteryzuje się wysoką zawartością żelaza, przekraczającą 98%, oraz niską masą molową, co umożliwia użycie minimalnych jego dawek w celu pokrycia dziennego zapotrzebowania na ten pierwiastek, w porównaniu do soli żelaza (II).

Znana jest cała gama preparatów farmaceutycznych i suplementów diety uzupełniających niedobory żelaza lub pokrywających jego zwiększone zapotrzebowanie. Preparaty te występują w postaci tabletek, tabletek musujących, kapsułek, saszetek, jak i w formie płynnej, takiej jak syrop lub tonik.

Schemat uzupełniania niedoborów żelaza powinien mieć charakterystykę liniową, dostosowaną do osobniczych potrzeb. Najbardziej optymalnym rozwiązaniem jest preparat dający możliwość dawkowania żelaza w przeliczeniu na kilogram masy ciała. Preparaty w postaci tabletek, tabletek musujących, kapsułek oraz saszetek charakteryzują się dawkowaniem progowym i nie dają możliwości indywidualnego sposobu regulacji dawki aplikowanego żelaza w prosty do przeliczenia sposób. Produkty w postaci syropu bądź płynu doustnego dają taką możliwość, jednak ich stosowanie wiąże się z ciemnymi przebarwieniami uzębienia. W zależności od zastosowanego źródła żelaza pojawia się również efekt metalicznego posmaku w ustach, który odbierany jest jako wrażenie negatywne.

Znane preparaty zawierające żelazo elementarne mają postać tabletek lub kapsułek. Znane są również przykłady kompozycji płynnych, zawierających niejonowe źródła żelaza w postaci żelaza elementarnego, na bazie wody jako nośnika. Z uwagi na właściwości utleniające wody kompozycje takie wymagają zastosowania szerokiej gamy dodatkowych substancji konserwujących i stabilizujących takich jak: EDTA, tert-butylohydrochinon (TBHQ), metylparaben czy propylparaben. Konieczność użycia tych substancji oraz ich limity ilościowe w produktach medycznych lub spożywczych ograniczają lub wręcz uniemożliwiają użycie takiej kompozycji w celu uzupełnienia niedoborów żelaza u dzieci i niemowląt. Reaktywność wody jako czynnika utleniającego w stosunku do żelaza w postaci atomowej stwarza również ryzyko dysproporcjonowania formy żelaza obecnego w produkcie pomiędzy formą atomową i formą jonów o różnej wartościowości (Fe^{2+} , Fe^{3+}), w trudnej do określenia wzajemnej proporcji.

Znany jest również przykład doustnej kompozycji weterynaryjnej zawierającej żelazo elementarne do stosowania dla niemowląt ssaków innych niż ludzkie, ujawniony w zgłoszeniu patentowym WO 2010/146155A1. Zgłoszenie to dotyczy preparatu w postaci żelu o wysokiej zawartości mikronizowanego żelaza elementarnego, z nośnikiem olejowym. Zawartość żelaza w preparacie może wynosić od 5 do 30%, korzystnie od 10 do 25%, najkorzystniej 20%. Korzystna wielkość cząstek żelaza elementarnego została zdefiniowana w przedziale 3–7 μm .

Tak mała wielkość cząstek, a co za tym idzie wynikające z niej duże rozwinięcie powierzchni substancji aktywnej, powoduje zwiększenie szybkości reakcji przemiany żelaza elementarnego do jonów żelaza Fe^{2+} . Skutkuje to osiągnięciem w krótkim czasie w organizmie wysokiego stężenia żelaza w postaci jonów. Efekt szybkiego wzrostu stężenia jonów jest dodatkowo potęgowany przez wysoką zawartość żelaza w preparacie. Wysoka zawartość żelaza elementarnego w preparacie połączona z małą wielkością cząstek mogłaby się wydawać dla specjalisty niezwykle korzystna w kontekście uzupełniania jego niedoborów. Z kolei większe cząstki żelaza elementarnego o mniejszej powierzchni, których szybkość reakcji przemiany do formy jonów żelaza Fe^{2+} jest wolniejsza, mogłyby się wydawać mniej korzystne w procesie uzupełniania niedoborów żelaza z uwagi na mniejsze stężenie uzyskiwane w tej samej jednostce czasu. Jednak wysokie stężenie jonów żelaza nie oznacza wysokiej jego przyswajalności, ponieważ jest ona ograniczona przez szereg procesów biochemicznych zachodzących w organizmie żywym. Poziom żelaza w organizmie reguluje dwunastnica, właśnie tutaj komórki nabłonkowe, enterocyty, są odpowiedzialne za wchłanianie żelaza z pokarmu. Najlepiej poznanym mechanizmem transportu żelaza jest mechanizm związany z DMT (ang. Divalent Metal Transporter). Przenośnik metali dwuwartościowych (ang. Divalent Metal Transporter – DMT1) transportuje kationy żelaza oraz inne dwuwartościowe metale ze światła jelita do wnętrza enterocytów. Konieczna jest na tym etapie obecność białek pomocniczych, które redukują żelazo zawarte w diecie. Następnie dopiero żelazo zawarte w enterocytach jest transportowane do naczyń krwionośnych. Wysokie stężenie jonów Fe^{2+} uzyskiwane w krótkim przedziale czasowym, będące rezultatem użycia małej wielkości cząstek o dużej powierzchni reakcji, w połączeniu z biochemicznymi ograniczeniami procesu przyswajania żelaza, prowadzi do powstania niewykorzystanego przez organizm nadmiaru jonów. Niewykorzystany nadmiar jonów obecnych w wysokim stężeniu może prowadzić do szeregu zaburzeń równowagi mikrobiologicznej flory bakteryjnej w jelicie organizmu żywego. Liczne badania, prowadzone zarówno na modelach zwierzęcych, jak i ludzkich, potwierdzają tezę o wpływie suplementacji żelaza na system odporności. Jak dowiedziono w *Iron and Infection* EUGENE D. WEINBERG, *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, Mar. 1978, Vol. 42, No. 1, p. 45–66 noworodki poddane obciążeniu żelazem ponad możliwości asymilacyjne organizmu posiadają wyraźne obniżoną odporność na infekcje bakteryjne. Podobne skojarzenia uzyskano w badaniach nad noworodkami, gdzie statystycznie udowodniono związek nadpodaży żelaza z częstością występowania sepsy wywołanej bakteriami gram-ujemnymi Barry, D. M. J., and A. W. Reeve. 1977. *Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscular iron administration. Pediatrics* 10:908–912.

Bez wątpliwości wykazano także, że żelazo jest czynnikiem limitującym wzrost oraz patologiczną aktywność niektórych mikroorganizmów kolonizujących ludzki układ trawienny. Następuje ciągła rywalizacja o źródło żelaza pomiędzy systemem jelitowego transportu żelaza, a jego wykorzystaniem przez mikroorganizmy patogenne. Kiedy tylko nadpodaż żelaza przekracza zdolności asymilacyjne organizmu, zostaje ono wykorzystane przez te mikroorganizmy. Potencjał redox żelaza prowadzi do szybkiej jego transformacji z +2 na +3 stopień utlenienia, co z kolei jest siłą napędową wielu patogenów, prowadzących do stresu oksydacyjnego, a w jego konsekwencji do uszkodzeń w strukturze DNA, lipidów i białek. *Iron in Infection and Immunity* James E. Cassatt and Eric P. Skaar *Cell Host & Microbe* 13,

May 15, 2013 ©2013 Elsevier Inc. Naukowcy dowodzą że naturalne mechanizmy odpornościowe są ściśle zależne od utrzymania środowiska o niskiej podaży żelaza – w tym wspomagają organizm wyspecjalizowane struktury białek wiążących żelazo, transferryny oraz laktoferyny (*The Critical Role of Iron in Some Clinical Infections* J.J. Bullen, C.G. Ward, H.J. Rogers *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, August 1991, p. 613–617). Kiedy żelazo staje się dostępne w ilościach przekraczających naturalne mechanizmy wychwytu żelaza (wolne jony w ilości powyżej 10^{-18}) mechanizmy te ulegają zaburzeniu (Bullen, J.J., Rogers, H.J. and Griffiths, E. (1978) *Role of iron in bacterial infection. Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 80, 1–35).

Z powyższych względów niezwykle ważne jest, aby preparaty żelaza charakteryzowały się bardzo precyzyjnym profilem uwalniania, najkorzystniej profilem liniowym. Profil taki powinien dawać możliwość uzyskania wysokiej biodostępności żelaza, w połączeniu z odpowiednio długim czasem uwalniania żelaza dającym możliwość optymalnego przyswojenia przez organizm, a co za tym idzie redukcji szkodliwego nadmiaru niewykorzystanych jonów.

Obecny wynalazek rozwiązuje problem wytworzenia preparatu uzupełniającego niedobory żelaza bądź też pokrywającego zwiększone jego zapotrzebowanie, bez opisanych wyżej efektów ubocznych i nie generującego ryzyka zatrucia oraz umożliwiającego dokładne dawkowanie.

Kompozycja według wynalazku ma postać płynną i składa się z żelaza elementarnego o średniej wielkości cząstek w przedziale od 7 do 10 mikronów w ilości od 0,1% do 15,0% m/m oraz nośnika wybranego spośród: glicerolu, oleju pochodzenia roślinnego i/albo rybiego w ilości od 85% do 99,9% m/m, pojedynczo lub w mieszaninie. Korzystnie żelazo elementarne ma rozkład cząstek o charakterystyce $7\ \mu\text{m} < D_{50} < 10\ \mu\text{m}$, $D_{90} < 15\ \mu\text{m}$.

Jako olej kompozycja korzystnie zawiera: triglicerydy średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, korzystnie o długości łańcucha od C6 do C14, olej kukurydziany, olej rzepakowy, olej lniany, nierafinowany olej kokosowy, tran rybi, olej wątlusowy lub inne oleje pochodzenia rybiego, oliwę z oliwek albo dowolne mieszaniny wymienionych składników.

Najkorzystniej kompozycja zawiera mieszaninę triglicerydów średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych o długości łańcucha od C6 do C14. Najkorzystniej jest, kiedy łańcuchy o długości C8 do C10 stanowią nie mniej niż 90% masowych mieszaniny.

Kompozycja według wynalazku może zostać również wzbogacona o dodatkowe składniki pełniące istotną rolę w funkcjonowaniu układu krwionośnego oraz procesach krwiotwórczych, w których kluczową rolę odgrywa żelazo. Substancje dodatkowe oraz mechanizm ich działania stanowią o stopniu przydatności w przypadku produktów dla dzieci i niemowląt oraz kobiet w ciąży bądź planujących ciążę. Składniki, o które może być wzbogacona kompozycja to: mieszanina tokoferoli (Witamina E) i/lub α -tokoferol, organiczne związki z grupy retinoidów (Witamina A) i/lub retinol, grupa związków chemicznych, będących pochodnymi 2-metylo-1,4-naftochinonu (Witamina K), z których dwie najważniejsze pochodne to: witamina K₁ (fitomenadion, fitonation, filochinon i inne), oraz witamina K₂ (menachinon-6, farnochinon), grupa rozpuszczalnych w tłuszczach steroidowych organicznych związków chemicznych, znanych jako witaminy D, z których dwie najważniejsze to: ergokalcylferol (witamina D₂) oraz cholekalcylferol (witamina D₃), witamina C (kwas askorbinowy) oraz witaminy z grupy B, szczególnie B6, B9 i/lub jego zredukowanych stabilnych tetrahydrofolianów np. L-5-MTHF, L-5-metylotetrahydrofolian i B12. Witamina C pomaga we wchłanianiu żelaza, odgrywa również ważną rolę w aktywacji kwasu foliowego (witamina B9) i procesie oddychania komórek, pobudza również dojrzewanie czerwonych krwinek. Kwas foliowy odgrywa istotną rolę w procesie hemopoezy, współuczestniczy z witaminą B12 w regulacji tworzenia oraz dojrzewania czerwonych krwinek. Witamina B12 bierze udział w przemianie kwasu foliowego do biologicznie aktywnego tetrahydrofolianu, odpowiedni jej poziom zapobiega takim schorzeniom jak anemia złośliwa. Witamina B6 bierze udział w procesie tworzenia hemoglobiny, zwiększa również odporność organizmu.

Kompozycja według wynalazku może również zostać wzbogacona w substancje z grupy naturalnych organicznych karotenoidów, takich jak: luteina, i/lub likopen, i/lub zeaksantyna, które oprócz silnych właściwości przeciwutleniających i neuroprotektoryjnych, wpływają na biodostępność żelaza oraz znoszą tzw. „efekt kawy”, co ma niezwykle istotne znaczenie dla osób dorosłych z niedoborem żelaza lub zwiększonym zapotrzebowaniem na ten pierwiastek, spożywających jednocześnie duże ilości kawy.

Dodatkowe składniki aktywne kompozycja według wynalazku zawiera w ilości od 0,001 do 10% masowych, w zależności od rodzaju składnika.

Wynalazek obejmuje także zastosowanie wyżej zdefiniowanej kompozycji do wytwarzania preparatu do uzupełniania niedoborów żelaza i/albo pokrycia zwiększonego zapotrzebowania na żelazo u ssaków, w tym ludzi. Kompozycja z uwagi na swoje unikalne właściwości jest przeznaczona zwłaszcza do podawania w leczeniu i profilaktyce niemowląt, dzieci, kobiet w ciąży i planujących ciążę.

Kompozycję według wynalazku wytwarza się w ten sposób, że wstępnie miesza się żelazo elementarne z pierwszą częścią nośnika w ilości od 5 do 30% masowych, a następnie dodaje się pozostałą część nośnika, intensywnie mieszając w celu wytworzenia zawiesiny. Dodatkowe składniki aktywne dodaje się do zawiesiny w ostatniej fazie mieszania. Proces mieszania i pakowania kompozycji korzystnie prowadzi się w atmosferze ochronnej gazu obojętnego, takiego jak azot, argon, hel.

Nośnik kompozycji według wynalazku może zostać zmieszany w celu ogólnego poprawienia własności produktu: poprawy rozpuszczalności składników wzbogacających nierozpuszczalnych w olejach i tłuszczach lub dopasowania do preferencji smakowych poszczególnych grup odbiorców w dowolnym stosunku z innym nośnikiem wskazanym do użycia dla produktów przeznaczonych dla dzieci i niemowląt takim jak: glicerol, olej kukurydziany, oliwa z oliwek, oliwa z oliwek rafinowana, jak również celu poprawy właściwości smakowych. Nośnik nie może przy tym posiadać charakteru utleniającego, który mógłby powodować niekontrolowaną dysproporcję żelaza w formie atomowej w stosunku do żelaza w formie jonów o różnej wartościowości (Fe^{2+} Fe^{3+}). Użycie takiego nośnika spowodowałoby pogorszenie biodostępności żelaza na skutek obecności formy zjonizowanej.

Kompozycja według wynalazku redukuje możliwość powstawania podwyższonego stężenia niewykorzystanych jonów żelaza. Właściwość ta wynika z wydłużonej szybkości konwersji żelaza elementarnego do jonów żelaza przy udziale kwasów żołądkowych będącej konsekwencją użycia żelaza elementarnego o zdefiniowanej wyżej wielkości cząstek.

Wspomniana wyżej właściwość została potwierdzona w przeprowadzonych przez autorów wynalazku badaniach *in-vitro* szybkości reakcji roztwarzania żelaza elementarnego w kwasie solnym 0,1 M. Użyto żelaza elementarnego o określonej charakterystyce wielkości cząstek porównawczo dla mediany wielkości cząstek: 8,5 μm , 9,5 μm oraz porównawczo 5,2 μm (z zakresu ujawnionego w zgłoszeniu patentowym WO 2010/146155A1). Dla żelaza o medianie wielkości cząstek 5,2 μm już po 15 minutach uzyskano maksimum absorpcji. Przy medianie 8,5 μm maksimum absorpcji uzyskano po 20 minutach, a dla 9,5 μm po 60 min, przy czym w ostatnim przypadku uzyskano liniową zależność uwalniania żelaza w czasie do 45 min.

Zasadniczo, im mniejsze są drobiny żelaza tym szybciej zachodzi reakcja jego roztwarzania w kwasie solnym. Autorzy obecnego wynalazku stwierdzili, że istnieje bardzo wąski przedział wielkości cząstek, dla którego proces ten przechodzi od zależności wykładniczej do liniowej i dalej dąży do charakterystyki zerowego rzędu. Granica ta mieści się w przedziale wielkości cząstek pomiędzy 7 a 9,5 mikrona.

Charakterystyka roztwarzania cząstek żelaza w kwasie solnym 0,1 M przekłada się na charakterystykę uwalniania żelaza z preparatów farmaceutycznych zawierających cząstki o określonej wielkości. Preparat przygotowany zgodnie z opisem według zgłoszenia patentowego WO 2010/146155A1 w postaci żelu na bazie oleju MCT i cząstek o wielkości 5,2 mikrona (mediana D_{50}) wykazuje tendencje do wykładniczego uwalniania jonów żelaza. Natomiast użycie w preparacie na bazie oleju MCT cząsteczek o wielkości ziarna 8,5 mikrona skutkuje uzyskaniem kinetyki liniowej, a stężenie maksymalne jest uzyskiwane w czasie odpowiadającym pasażowi żołądkowemu. W konsekwencji, preparat farmaceutyczny przygotowany w oparciu o zakres wielkości cząstek zdefiniowany zgodnie z wynalazkiem, w połączeniu z dawką ustaloną na maksymalną możliwą do przyswojenia, tworzy preparat o niezwykle wydajnej dostępności oraz zminimalizowanych skutkach ubocznych związanych z wprowadzeniem do organizmu ilości żelaza przekraczającej zdolności przyswojenia, kiedy to powstające nadmiary jonów żelaza w jelitach mogą sprzyjać rozwojowi niefizjologicznej flory bakteryjnej.

Dzięki wymienionym właściwościom oraz możliwości stosowania niskich dawek preparat według wynalazku, zawierający żelazo elementarne o ściśle definiowanej wielkości cząstek, charakteryzuje się znikomą toksycznością, zredukowaną do minimum ilością i natężeniem efektów ubocznych. W badaniach na modelach zwierzęcych udowodniono, iż żelazo elementarne jest 30–150 razy mniej toksyczne w porównaniu do rozpuszczalnych soli żelaza. Możliwość zredukowania do minimum dawki takiego żelaza powoduje, że mimo konieczności udziału soku żołądkowego w jego transformacji do postaci jonowej, nie następują zaburzenia gospodarki sokami trawiennymi pełniącymi kluczową rolę w procesach odżywiania.

Płynna postać kompozycji według wynalazku daje możliwość indywidualnego doboru dawki preparatu, przez proste przeliczenie ilości preparatu na kilogram masy ciała. Produkt taki całkowicie rozwiązuje wady dawkowania progowego charakterystycznego dla formulacji stałych, a wiążącego się z ryzykiem przedawkowania preparatu mogącego prowadzić do zatrucia lub nasilenia się efektów ubocznych, bądź przyjmowania dawek niewystarczających do pokrycia zwiększonego zapotrzebowania na żelazo.

Zastosowanie żelaza elementarnego o zdefiniowanym zgodnie z wynalazkiem, wąskim przedziale wielkości cząstek powoduje bardzo wysoką biodostępność w organizmie ludzkim oraz redukuje efekt powstania wysokiego stężenia niewykorzystanych jonów żelaza. Ten fakt, w połączeniu z pożądaną absorpcją z przewodu pokarmowego, sprawia, iż żelazo elementarne jest uwalniane stopniowo i liniowo. W efekcie toksyczność oraz intensywność efektów ubocznych jest zredukowana, wydłuża się jednocześnie czas potrzebny do przyswojenia odpowiedniej ilości jonów oraz do interwencji medycznej w sytuacji przypadkowego przedawkowania preparatu.

Nośniki kompozycji według wynalazku charakteryzują się całkowitym brakiem reaktywności ze źródłem żelaza i nie posiadają właściwości utleniających. Dzięki temu zarówno żelazo, jak i nośnik, zachowują stabilnie swoje właściwości chemiczne i fizykochemiczne we wzajemnym kontakcie. Wyeliminowano zatem nie tylko wodę jako nośnik, ale również konieczność użycia jakichkolwiek substancji konserwujących i stabilizujących kompozycję. Dodatkowo część z wymienionych olejów, zwłaszcza olej MCT, wykazują właściwości przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybicze wynikające ze specyficznej budowy chemicznej, co dodatkowo wpływa na wysoką stabilność kompozycji. Trzeba podkreślić, że zastosowanie jako nośnika mieszaniny średniołańcuchowych olejów, w szczególności kompleksu olejów z grupy MCT (mieszaniny średniołańcuchowych triglicerydów), dodatkowo korzystnie wpływa na organizm, zważywszy na pozytywne oddziaływanie samego nośnika. Ponadto kompozycja według wynalazku zapewnia neutralny smak i zapach.

Korzystny profil uwalniania żelaza z preparatu według wynalazku pozwolił na ustalenie optymalnego wzajemnego stosunku ilościowego składnika aktywnego i nośnika w przyjmowanej dawce produktu gotowego. Bezpieczeństwo stosowania oraz cechy organoleptyczne nośnika (smak, zapach, kolor) odgrywają istotną rolę w szczególności w przypadku produktów mających zastosowanie w pediatrii. Również ilość zastosowanego nośnika w stosunku do składnika aktywnego nie jest bez znaczenia w przypadku preparatów dla dzieci i niemowląt oraz dla kobiet w ciąży i planujących ciążę.

Ściśle zdefiniowana wielkość użytych cząstek żelaza elementarnego pozwoliła także na zminimalizowanie ryzyka związanego z indukowaniem aktywności patologicznej szczepów bakterii obecnych w fizjologicznej florze jelit, poprzez dostarczenie żelaza egzogenne w ilościach przekraczających zdolności asymilacyjne ustroju.

Połączenie składników kompozycji według wynalazku rozwiązuje dotychczasowe problemy, będące cechą wspólną wszystkich preparatów zawierających żelazo, dzięki posiadaniu następujących właściwości:

- możliwość liniowego, płynnego dawkowania zindywidualizowanego dla każdego pacjenta,
- proste ustalenie dawki,
- wysoka biodostępność żelaza,
- wyeliminowanie konieczności użycia dodatkowych substancji stabilizujących lub konserwujących,
- stabilność w czasie,
- wyeliminowanie ryzyka powstawania formy zjonizowanej o trudnym do ustalenia stopniu utlenienia żelaza,
- wyeliminowanie konieczności stosowania modyfikowanych formulacji w celu poprawy biodostępności oraz ochrony organizmu przed dużymi dawkami żelaza,
- znaczące obniżenie nasilenia efektów ubocznych,
- zmniejszenie niebezpieczeństwa przypadkowego lub celowego przedawkowania preparatu,
- wyeliminowanie metalicznego smaku w ustach,
- wyeliminowanie przebarwień uzębienia charakterystycznego dla produktów płynnych z jonami żelaza,
- brak cech negatywnych charakterystycznych dla preparatu w postaci żelu: trudne i czasochłonne przywracanie homogenności preparatu po sedymentacji cząsteczek żelaza, kłopotliwa aplikacja doży związana z dużą lepkością preparatu oraz tendencją do przylegania żelu do błon biologicznych przełyku i początkowych odcinków układu pokarmowego.

Czyni to z kompozycji według wynalazku unikalny i zaawansowany technologicznie nowoczesny preparat uzupełniający niedobory żelaza lub pokrywający zwiększone zapotrzebowanie na żelazo w organizmie ludzkim, który, dzięki brakowi substancji stabilizujących oraz konserwujących, może być stosowany przez dzieci i niemowlęta oraz kobiety w ciąży. Kompozycja jest także przydatna w celu zniesienia tzw. „efektu kawy” u osób pijących duże ilości tego napoju.

Przedmiot wynalazku został bliżej przedstawiony w przykładach.

Przykład 1

Kompozycję o składzie: żelazo elementarne o średnim rozdrobnieniu $D_{50}=8,5$ mikronów w ilości 2,958 g oraz mieszanina średniołańcuchowych triglicerydów C6–C14, znaną pod nazwą olej MCT w ilości 95,600 g, przygotowano w następujący sposób.

Do zbiornika zawierającego 5% całej ilości oleju wsypano całą naważoną ilość żelaza. Mieszano intensywnie podczas dozowania, z szybkością nie mniej niż 50 obrotów na minutę, a proszek podawano partiami w celu uniknięcia ewentualnego zbrylania się materiału. Mieszano 15 minut po zakończeniu dozowania proszku. Otrzymaną zawiesinę dopełniono pozostałą częścią oleju i mieszano przez 30 minut z szybkością nie mniejszą niż 50 obrotów na minutę. Utrzymywano ciągłe mieszanie podczas całego procesu i cały proces prowadzono w temperaturze pokojowej.

Przykład 2

Kompozycję o składzie: żelazo elementarne o średnim rozdrobnieniu $D_{50}=8,5$ mikronów w ilości 15,915 g oraz olej MCT w ilości 85,600 g, przygotowano w następujący sposób.

Do zbiornika całą ilością oleju wsypano całą naważoną ilość żelaza. Mieszano intensywnie podczas dozowania, z szybkością nie mniej niż 50 obrotów na minutę, a proszek podawano partiami, w celu uniknięcia ewentualnego zbrylania się materiału. Po zakończeniu dozowania proszku mieszano jeszcze przez 25 minut. Proces mieszania prowadzono w temperaturze pokojowej.

Przykład 3

Kompozycję o składzie: żelazo elementarne o średnim rozdrobnieniu $D_{50}=8,5$ mikronów w ilości 2,958 g, tokoferol w ilości 0,050 g oraz glicerol w ilości 95,600 g, przygotowano w następujący sposób.

Do zbiornika z 5% całej ilości glicerolu dodano tokoferol, następnie wsypano całą naważoną ilość żelaza. Mieszano intensywnie podczas dozowania, z szybkością nie mniej niż 50 obrotów na minutę, a proszek podawano partiami w celu uniknięcia ewentualnego zbrylania się materiału. Mieszano 20 minut po zakończeniu dozowania proszku. Otrzymaną zawiesinę dopełniono pozostałą ilością glicerolu i mieszano intensywnie, nie krócej niż 30 minut, z prędkością nie mniejszą niż 50 obrotów na minutę. Proces prowadzono w temperaturze pokojowej.

Przykład 4

Kompozycję o składzie: żelazo elementarne o średnim rozdrobnieniu $D_{50}=8,5$ mikronów w ilości 2,958 g, tokoferol w ilości 0,050 g, olej MCT w ilości 60,000 g, oliwa z oliwek w ilości 35,500 g, witamina B12 (0,1% roztwór w glicerolu) w ilości 0,100 g, przygotowano w następujący sposób.

Do zbiornika z 5% całej ilości MCT dodano tokoferol, następnie wsypano całą naważoną ilość żelaza. Mieszano intensywnie podczas dozowania, z szybkością nie mniej niż 50 obrotów na minutę, a proszek podawano partiami, w celu uniknięcia ewentualnego zbrylania się materiału. Mieszano 15 minut po zakończeniu dozowania proszku. Następnie dodano odważoną ilość oliwy z oliwek i mieszano przez kolejne 15 minut. Otrzymaną zawiesinę dopełniono pozostałą częścią oleju MCT i mieszano intensywnie nie krócej niż 30 minut, z prędkością nie mniejszą niż 50 obrotów na minutę. Cały proces prowadzono w temperaturze pokojowej.

Przykład 5

Przeprowadzono badania *in-vitro* szybkości reakcji roztwarzania żelaza elementarnego w kwasie solnym 0,1 M, oznaczono stężenie jonów żelaza w próbkach metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem pomiaru absorpcji przy długości fali 511 nm wobec wskaźnika barwnego – fenantroliny (zgodnie z danymi literaturowymi wartość ta odpowiada maksimum absorpcji dla kompleksu żelaza(II) z fenantroliną).

W badaniu użyto żelaza elementarnego (żelazo karbonylowe – proszek) o medianie wielkości cząstek 5,2 μm (próbka A), medianie wielkości cząstek 9,5 μm (próbka B) i medianie wielkości cząstek 8,5 μm (próbka C). Charakterystykę wielkości cząstek żelaza pokazano w Tabeli 1.

T a b e l a 1
Charakterystyka wielkości cząstek żelaza

Oznaczenie próbki	Mediana rozkład cząstek D_{50} [μm]	D_{10} [μm]	D_{90} [μm]
A	5,2	3,5	9,2
B	9,5	3,6	17,8
C	8,5	2,7	13,0

Odważono po 10,5 mg odpowiednio próbek A, B, C. Do odważek dodano po 5 ml 0,1 M kwasu solnego o temperaturze 37°C do uzyskania stężenia 2,1 mg/ml (kwas termostatowano wcześniej w łaźni ultradźwiękowej). Próbki pozostawiano w płuczce ultradźwiękowej w temperaturze 37°C na cały czas pomiaru i pobierano po 10 μl próbki w postaci zawiesiny po zadanym czasie. Przed pobraniem próbkę wytrząsano w celu uzyskania jednolitego stężenia w całej objętości, a następnie żelazo oddzielano od roztworu za pomocą magnesu neodymowego, w celu usunięcia niezjonizowanych cząsteczek żelaza, mogących reagować nadal w czasie pomiaru absorbancji i zaburzać wyniki. Pomiaru kontynuowano aż do osiągnięcia niezmiennego stężenia jonów żelaza(II) – plateau na krzywej zmian stężenia jonów żelaza(II) w próbce, w czasie. Porcje badanego roztworu (10 μl) zawierającą jony żelaza(II) w kwasie solnym przenoszono do kuwety zawierającej roztwór o składzie podanym w Tabeli 2.

T a b e l a 2
Skład próbki w kuwecie pomiarowej, przed dodaniem jonów żelaza(II)

skład próbki	μl
woda	1720
cytrynian sodu 10% w/w	20
chlorowodorek hydroksyloaminy 10% w/w	40
fenantrolina (0,25% w/w w 0,1 M HCl)	200

Widmo absorpcyjne rejestrowano bezpośrednio po dodaniu porcji roztworu zawierającego jony żelaza(II) do kuwety zawierającej inne odczynniki. Rejestrowano widma w zakresie od 360 nm do 700 nm, z dokładnością co 1 nm, za pomocą spektrometru UV-Vis-PerkinElmer Lambda 650. Dla długości fali 511 nm obserwowano maksimum absorbancji – zgodnie z danymi literaturowymi odpowiada ono absorbancji kompleksu żelaza(II) z fenantroliną. Pomiaru wartości absorbancji dokonano w punkcie maksimum odpowiadającym długości fali 511 nm. Uzyskaną absorbancję wykorzystano do obliczenia stężenia jonów żelaza(II) w próbce, wykorzystując krzywą wzorcową, uwzględniając rozcieńczenia (warunki pomiaru dobrano tak, aby wszystkie uzyskane wartości absorbancji mieściły się w zakresie liniowym krzywej kalibracyjnej). Wykreślono zależność zmian stężenia jonów żelaza(II) w próbce od czasu.

Najszybciej uwalniało się żelazo z próbki A – już po 15 minutach uzyskano maksimum absorbancji. Próbka C roztwarzała się relatywnie wolniej niż próbka A – maksimum absorbancji uzyskano po 20 min. Dla próbki B uzyskano liniową zależność uwalniania żelaza w czasie do 45 min. Maksimum absorbancji uzyskano po 60 min.

Wyniki zebrano na wykresach: Fig. 1 i Fig. 2 przedstawiających zależność absorbancji od czasu badanych próbek A, B i C przy stężeniu 2,1 mg/ml. Fig. 2 pokazuje uszczegółowione porównanie próbek A, B i C dla stężenia 2,1 mg/ml w celu precyzyjnego zobrazowania istoty wynalazku.

Jak widać na Fig. 1 i Fig. 2 cząstki żelaza z zakresu wielkości cząstek pomiędzy 5 a 8,5 mikrona (liczonej jako mediana D_{50}) posiadają charakter wykładniczy reakcji, natomiast już niewielki wzrost wielkości cząstek poza granicę 8,5 mikrona (w badaniu mediana 9,5 mikrona) powoduje przekształcenie się tej zależności do postaci liniowej i dalszego dążenia do zachowania się według kinetyki zero-rzędu.

P r z y k ł a d 6

W dalszej oparciu o tą samą metodę analityczną przeprowadzono badanie preparatów farmaceutycznych opracowanych na bazie cząsteczek żelaza A i C. Preparat oparty na cząsteczkach z próbki A został skomponowany zgodnie z opisem ujawnionym w zgłoszeniu patentowym

WO 2010/146155A1, natomiast preparat w oparciu o cząsteczki C został przygotowany zgodnie z opisem będącym przedmiotem wynalazku.

Tabela 3
Skład formulacyjny produktów farmaceutycznych w oparciu o cząsteczki A i C.

Oznaczenie produktu	Żelazo molekularne	MCT	Krzemionka koloidalna	Tlenek glinu
A	25%	Ad 100g	0,625g	0,125g
C	1,52%	Ad 100g	-	-

Przed pobraniem naważki preparatu C przeprowadzono homogenizację próbki – 5 min wytrząsano na homogenizatorze (amplituda = 70%, cykl = 0,5) w celu otrzymania jednorodnej zawiesiny. Naważkę zawiesiny olejowej żelaza (żelazo karbonylowe w MCT, 1,52%, $D_{50} = 8,5 \mu\text{m}$) – preparat o wadze 668,7 mg rozpuszczono w 0,1 M kwasie solnym do uzyskania stężenia 2,1 mg/ml. Przeprowadzono serie pomiarów, tak samo jak w przypadku Przykładu 5. Uzyskano „liniową” zależność stężenia jonów żelaza(II) od czasu reakcji od 5 do 45 min dla maksimum przy 511 nm ($R^2=0,999$).

Przed pobraniem naważki preparatu A przeprowadzono homogenizację próbki – 5 min wytrząsano na homogenizatorze (amplituda = 70%, cykl = 0,5) w celu otrzymania jednorodnej zawiesiny. Naważkę zawiesiny olejowej żelaza (żelazo molekularne, 25%, $D_{50} = 5,2 \mu\text{m}$) – preparat o wadze 42 mg rozpuszczono w 0,1 M kwasie solnym do uzyskania stężenia 2,1 mg/ml. Przeprowadzono serie pomiarów, tak samo jak w przypadku Przykładu 5.

Porównanie kompozycji przedstawia Tabela 3, a na Fig. 3 przedstawiono porównanie szybkości uwalniania jonów żelaza z preparatów farmaceutycznych opartych na żelazie molekularnym, w czasie.

Preparaty farmaceutyczne przygotowane z wykorzystaniem cząstek badanych w Przykładzie 5 potwierdzają tendencje charakterystyki uwalniania. Preparat A w postaci żelu na bazie oleju MCT i cząstek o wielkości 5,2 mikrona (mediana D_{50}) wykazuje tendencje do wykładniczego uwalniania jonów żelaza. Preparat C zawierający cząsteczki żelaza o wielkości ziarna 8,5 mikrona skutkuje uzyskaniem kinetyki liniowej, a stężenie maksymalne jest uzyskiwane w czasie odpowiadającym pasażowi żołądkowemu.

Zastrzeżenia patentowe

1. Płynna kompozycja zawierająca źródło żelaza w postaci niejonowej oraz nośnik, **znamienna tym**, że składa się z żelaza elementarnego o średniej wielkości cząstek D_{50} w przedziale od 7 do 10 mikronów w ilości od 0,1% do 15,0% m/m oraz nośnika wybranego spośród glicerolu i/albo oleju pochodzenia roślinnego i/albo rybiego w ilości od 85% do 99,9% m/m., pojedynczo lub w mieszaninie.
2. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że żelazo elementarne posiada rozkład cząstek o charakterystyce $7 \mu\text{m} < D_{50} < 10 \mu\text{m}$, $D_{90} < 15 \mu\text{m}$.
3. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że jako olej zawiera: triglicerydy średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, glicerol, olej kukurydziany, olej rzepakowy, olej lniany, nierafinowany olej kokosowy, tran rybi, olej wątlusowy lub inne oleje pochodzenia rybiego, oliwę z oliwek albo dowolne mieszaniny wymienionych substancji.
4. Kompozycja według zastrz. 1 albo 3, **znamienna tym**, że jako olej zawiera triglicerydy średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych o długości łańcucha od C6 do C14, pojedynczo lub w mieszaninie.
5. Kompozycja według zastrz. 4, **znamienna tym**, że zawiera mieszaninę triglicerydów średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, w której łańcuchy o długości C8 do C10 stanowią nie mniej niż 90% masowych.
6. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że zawiera dodatkowo co najmniej jeden składnik aktywny wybrany z grupy zawierającej: mieszaninę tokoferoli, α -tokoferol, organiczne związki z grupy retinoidów, retinol, pochodne 2-metylo-1,4-naftochinonu, witaminy D, naturalne organiczne karotenoidy, witaminę C, witaminy z grupy B.
7. Kompozycja według zastrz. 6, **znamienna tym**, że dodatkowy składnik aktywny zawiera w ilości od 0,001 do 10% masowych w kompozycji.

8. Kompozycja według zastrz. 1 albo 6, **znamienna tym**, że dodatkowo zawiera co najmniej jedną farmaceutycznie dopuszczalną substancję pomocniczą.
9. Kompozycja według zastrz. 8, **znamienna tym**, że substancję pomocniczą zawiera w ilości od 1% do 10% masowych w kompozycji.
10. Zastosowanie kompozycji określonej w zastrzeżeniach 1–8 do wytwarzania preparatu do uzupełniania niedoborów żelaza i/albo pokrycia zwiększonego zapotrzebowania na żelazo u ssaka, w tym człowieka.
11. Zastosowanie według zastrz. 10, **znamiennie tym**, że kompozycja jest przeznaczona do podawania w leczeniu i profilaktyce niemowląt, dzieci, kobiet w ciąży i planujących ciążę.

Rysunki

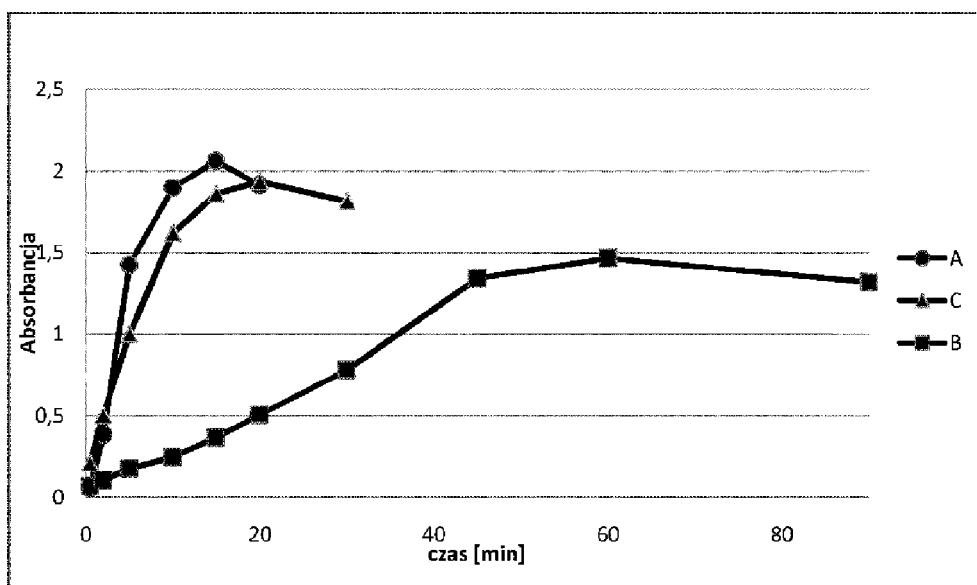


Fig. 1

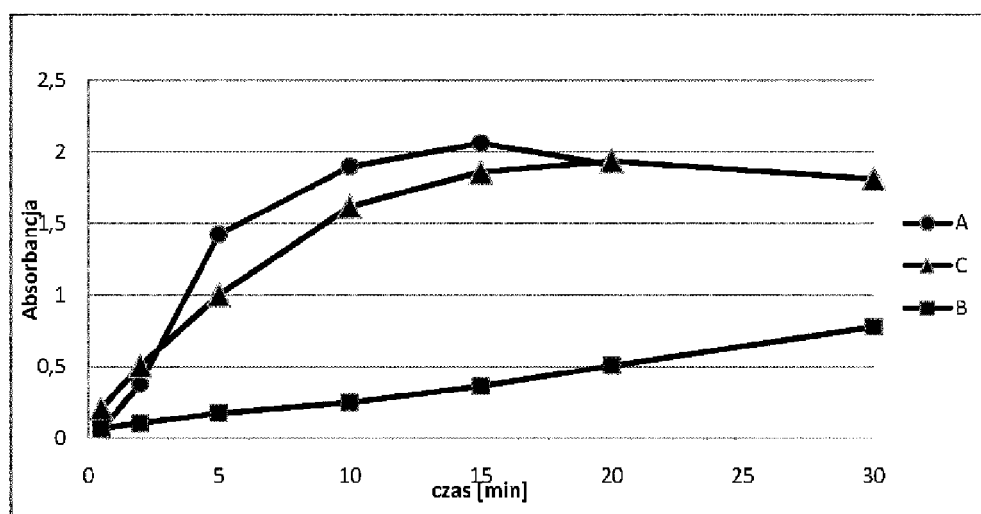


Fig. 2

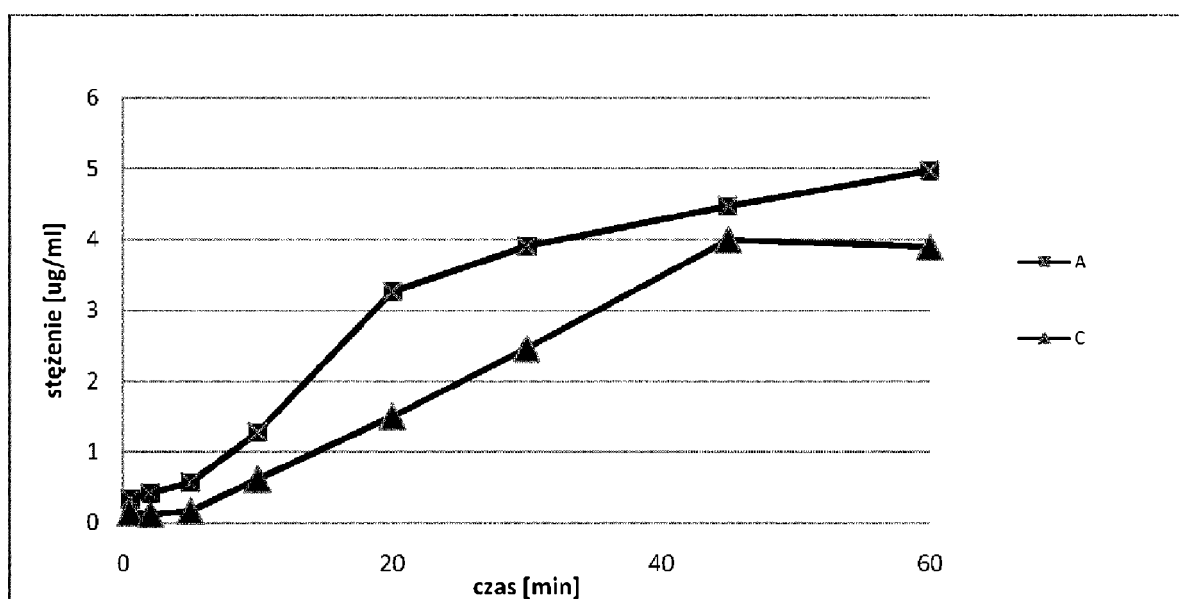


Fig. 3